

# EFEITO OVICIDA DE *METARHIZIUM ANISOPLIAE* IP 46, EM SOLO, SOBRE *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS*

Macsuel Corado Barreto, Christian Luz  
Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública  
Universidade Federal de Goiás, CEP 74560-050, Brasil  
maxewill.barreto@hotmail.com; wchrisluz@hotmail.com  
PALAVRAS-CHAVE: fungo, carrapato, ovo

## 1 INTRODUÇÃO

*Rhipicephalus sanguineus* é um carrapato trioxeno pertencente à família *Ixodidae* que parasita principalmente o cão doméstico e eventualmente ataca o homem. Esse invertebrado é de grande importância médica e veterinária no Brasil e em outros países das Américas (LEMOS et al. 2002, MARTINS et al. 2004, NEVES 2005). Ele é responsável por causar anemias nos animais parasitados podendo até levar à morte em casos de parasitismo mais severo além de ser transmissor importante de patógenos (HOOGSTRAAL 1967, WOLDEHIWET & RISTIC 1993, ANDEREG & PASSOS 1999, COSTA & BOTELHO 2005).

Carrapaticidas químicos são, ainda, os produtos mais utilizados para o combate desse carrapato, mas o surgimento de espécies de multiresistentes e problemas que esses produtos causam ao meio ambiente têm levado à busca de métodos eficientes e sustentáveis para o controle de *R. sanguineus* e outros carrapatos.

A fêmea de *R. sanguineus* ovipõe no meio ambiente, aglomerados de 1000 a 3000 ovos em locais com condições favoráveis de umidade e temperatura para embriogênese.

*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e outros fungos ocorrendo em solos e patogênicos para artrópodes infectam ovos, larvas, ninfas e adultos desse carrapato em condições de laboratório (GARCIA et al., 2005; FERNANDES & BITTENCOURT, 2008) e têm grande potencial para o controle das fases de vida livre do carrapato no campo. Ainda pouco se sabe sobre o efeito desses fungos em diferentes fases de desenvolvimentos de *R. sanguineus* no meio ambiente.

Melhores conhecimentos sobre o efeito de *M. anisopliae* no solo em ovos de *R. sanguineus* em condições de laboratório irão esclarecer melhor o potencial de *M. anisopliae* para um combate integrado desse ixodídeo.

## 2 OBJETIVO

**Objetivo geral:** Contribuir para o controle integral de carrapatos

**Objetivos específicos:**

- Padronizar a metodologia para testar atividade ovicida de fungos em *R. sanguineus*.
- Testar atividade ovicida de *M. anisopliae* IP 46 em *R. sanguineus*.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

**Origem e obtenção de ovos:** Fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* foram coletadas em cães naturalmente infestados e encaminhados para o Centro de Zoonoses de Goiânia, Goiás. No laboratório, as fêmeas foram lavadas com água estéril e secas em papel. Depois foram acondicionadas em placas de Petri (100 x 15 mm) sobre papel e incubadas a  $25\pm 1^\circ\text{C}$  e umidade relativa (UR)  $75 \pm 10\%$  para oviposição. Nos testes foram utilizados ovos com idade de 24 a 72 h.

**Origem, cultivo e preparação de *M. anisopliae*:** IP 46 foi isolado em solo do cerrado brasileiro e está armazenado na Coleção de Fungos do IPTSP/UFG. Antes dos testes foi passado em fêmeas de *R. sanguineus*, reisolado e cultivado em placa de Petri com meio de cultura BDA (batata, dextrose, agar) durante 15 dias a  $25^\circ\text{C}$ , UR  $70 \pm 10\%$ , fotofase de 12 h. Para preparação de conídios, eles foram raspados na superfície da cultura e suspensos em 0,1% de Tween 80. A suspensão foi filtrada por algodão hidrófilo e os conídios quantificados com câmara de Neubauer.

**Preparação do solo:** Latossolo vermelho sem matéria orgânica macroscopicamente visível, coletado no cerrado, na proximidade de Goiânia, Brasil,

foi seco por 48 h a 37°C, depois peneirado com malha de diâmetro de 0,59 mm e autoclavado.

**Padronização de método de inoculação de conídios em solo e avaliação da atividade ovicida de IP 46:** 0,5 ml de suspensão de conídios em concentrações de  $3,3 \times 10^4$ ;  $10^5$ ;  $3,3 \times 10^5$ ;  $10^6$  e  $3,3 \times 10^6$  conídios/g e 0,5 ml de água, só para o controle, foram inoculados em 4 g de solo e a mistura homogeneizada. Depois 2-3 g de mistura foram transferidas para placas de 4 Petri (100 x 15 mm) ou tubos de cultura de células (TPP, Suíça), permeáveis para ar, com áreas totais de 63,59 cm<sup>2</sup> e 10 cm<sup>2</sup> de superfície, respectivamente. Dez amontoados de 25 ovos cada foram colocados em cada placa ou tubo sobre o solo tratado numa distância mínima de 5 mm entre os amontoados. Os tubos foram incubados a 25°C, UR > 98% e fotofase de 12 h durante pelo menos 15 dias. A eclosão de larvas e o desenvolvimento de micélio na superfície dos ovos foram avaliados diariamente. Foram realizadas 4 repetições independentes.

#### **4 RESULTADOS**

Não foram observados micélio ou conídios sobre os ovos do controle. As larvas do controle foram as primeiras a eclodir a partir de 24 dias de exposição e a eclosão chegou até 93% a 34 dias sem mortalidade até 50 dias de observação( Fig. 1 A e B).

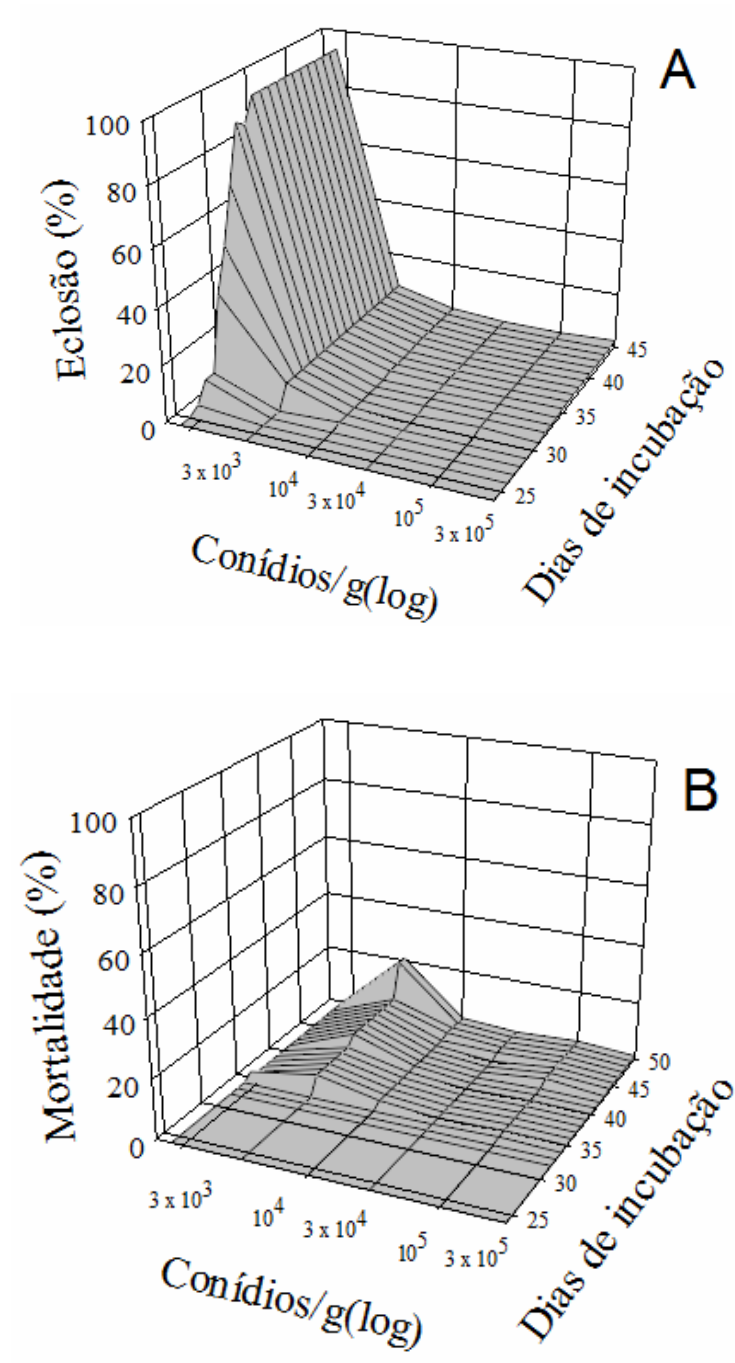


Figura 1- Eclosão (%) acumulada e (B) mortalidade (%) de larvas de *R. sanguineus* após a aplicação indireta de conídios de *Metharizium anisopliae*. Larvas foram incubadas em umidade >98% a 25°C.

Testando ovos sobre solo tratado com conídios de *M. anisopliae* IP 46 primeiro micélio e conídios foram encontrados na base dos conjuntos, independentemente da concentração de conídios testada, com 5 e 10 dias de exposição respectivamente. A eclosão foi distintamente inferior independentemente da concentração testada e não ultrapassou 2,7% a  $\geq 10^4$  conídios/g até 45 dias de incubação. Na concentração mais baixa ( $3,3 \times 10^3$  conídios/g) larvas de 7,6% dos ovos eclodiram no mesmo período.

A taxa de sobrevivência das larvas eclodidas de ovos exposto sobre solo tratado com conídios foi  $\leq 0,6\%$  para  $3,3 \times 10^3$  conídios/g e testando as outras concentrações ( $\geq 10^4$  conídios/g).

A grande maioria dos conjuntos foi completamente coberto por micélio e conídios nos próximos 10 dias

## 5 DISCUSSÃO

Ovos de *R. sanguineus* expostos a solo num ambiente úmido propício a embriogenese estão altamente suscetíveis a infecção com *M. anisopliae* mesmo em concentrações reduzida. As concentrações indicadas (conídios/ g) não refletiram o numero de conídios por superfície em contato com ovos que provavelmente foram distintamente menores.

O efeito carrapaticida de *M. anisopliae* (ovicida e larvicida) depende do tempo de exposição dos ovos sobre o solo contaminado devido o avanço da embriogenese no momento da contaminação e contato dos ovos após postura com os conídios.

Ovos postos sobre solo contaminado com conídios foram eliminados em poucos dias e as poucas larvas que eclodiram na mais baixa concentração provavelmente já estavam infectada e morreram nos dias seguintes.

Ficou claro que *M. anisopliae* recicla sobre os ovos que leva a um aumento quantitativo do inoculo e maior probabilidade de infectar fêmeas ovipondo outros ovos ou larvas eclodindo.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados encontrados reforçaram a hipótese que *M. anisopliae* atua como antagonista de *R. sanguineus* em condições de campo, sobretudo de fases

não parasíticos andando no solo e ressaltaram o potencial desse fungo para controle de *R. sanguineus*.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDEREG PI, PASSOS LMF . Erliquiose canina - Revisão. **Clínica Veterinária**, v.4, n.18, p. 31-38, 1999.

COSTA JO, BOTELHO JR. *Classe Arachnida*. In: NEVES DP, MELO AL, GENARO O, LINARDI PM. **Parasitologia Humana**, 11 ed. São Paulo: Atheneu, p. 413-421, 2005.

FERNANDES ÉKK, BITTENCOURT VREP. Entomopathogenic fungi against South American tick species. **Experimental and Applied Acarology**, v.46, p. 71-93, 2008.

GARCIA MV, MONTEIRO AC, SZABO MPJ, PRETTE N, BECHARA GH. Mechanism of infection and colonization of *Rhipicephalus sanguineus* eggs by *Metarhizium anisopliae* as revealed by scanning electron microscopy and histopathology. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 36, p. 368 - 372, 2005.

HOOGSTRAAL H. Ticks in relation to human diseases caused by *Rickettsia* species. **Annual Review of Entomology**, v.12, p. 377-420,1967.

LEMOS ERS, ROZENTAL T, VILLELA LC. Brazilian spotted fever: description of a fatal clinical case in the State of Rio de Janeiro. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v. 35, p. 523-525, 2002.

MARTINS JR, MEDRI IM, OLIVEIRA CM, GUGLIELMONE A. Ocorrência de carrapatos em tamanduá bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) na região do Pantanal Sul Mato-Grossense, **Brasil Ciência Rural** v. 34, p. 293 295, 2004.

NEVES DP. Classe Arachnida. In: COSTA JO, BOTELHO JR. **Parasitologia Humana**, 11. ed. São Paulo: Editora Atheneu, p. 413-421, 2005.

WOLDEHIWET Z, RISTIC M. *Rickettsial and chlamydial diseases of domestic animals*. **Oxford: Pergamon**, p. 427-427, 1993.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.  
This page will not be added after purchasing Win2PDF.